

Rec'd JPTO 27 MAY 2003

2003/03/15  
PCT/JP 03/15133

日本国特許庁  
JAPAN PATENT OFFICE

27.11.03

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日 2002年11月28日  
Date of Application:

出願番号 特願2002-345211  
Application Number:  
[ST. 10/C]: [JP 2002-345211]

出願人 アークレイ株式会社  
Applicant(s):

RECEIVED  
22 JAN 2004  
WIPO PCT

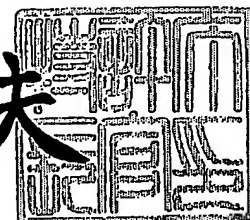
PRIORITY DOCUMENT  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH  
RULE 17.1(a) OR (b)

2004年 1月 7日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

今井康夫

BEST AVAILABLE COPY



【書類名】 特許願

【整理番号】 C5S12446

【提出日】 平成14年11月28日

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 C07H 1/06

【発明者】

【住所又は居所】 京都府京都市南区東九条西明田町 5 7 番地 アークレイ  
株式会社内

【氏名】 猪瀬 健

【発明者】

【住所又は居所】 京都府京都市南区東九条西明田町 5 7 番地 アークレイ  
株式会社内

【氏名】 中嶋 真也

【発明者】

【住所又は居所】 京都府京都市南区東九条西明田町 5 7 番地 アークレイ  
株式会社内

【氏名】 橋口 智史

【発明者】

【住所又は居所】 京都府京都市南区東九条西明田町 5 7 番地 アークレイ  
株式会社内

【氏名】 村上 淳

【特許出願人】

【識別番号】 000141897

【住所又は居所】 京都府京都市南区東九条西明田町 5 7 番地

【氏名又は名称】 アークレイ株式会社

【代表者】 土井 茂

## 【代理人】

【識別番号】 100080621

## 【弁理士】

【氏名又は名称】 矢野 寿一郎

【電話番号】 06-6944-0651

## 【手数料の表示】

【予納台帳番号】 001890

【納付金額】 21,000円

## 【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 検体前処理デバイス

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 検体導入部と、保持部と、洗浄液貯蔵部と、溶出液貯蔵部と、排出部とを備えたことを特徴とする検体前処理デバイス。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、検体の前処理を行うデバイスに関するものである。より詳しくは、核酸検査において、菌体などより検査対象となる核酸を取出すための前処理デバイスに関するものである。

【0002】

【従来の技術】

近年、ヒトゲノムの解読が進み、さまざまな生命現象と遺伝子の関連が解明されてきている。そして、この成果により、医学・医療は病態から病因へ、治療から予防へと視野を広げている。ここにおいて、遺伝子検査技術は重要な基盤となっている。

遺伝子検査は、培養困難な病原微生物の同定検査、抗生物質加療中や感染初期の病原微生物の検出、移行抗体が疑われた際の抗原検出、病原微生物の感染源調査、親子鑑定などの個人識別、さらに白血病・固形腫瘍の遺伝子レベルの病型診断や遺伝病の確定診断など従来の臨床検査では困難であった検査を行うことができる。そして、結果を得るまでの時間が、菌の培養を用いる手法に比べて短く、培養に時間のかかる細菌の検出には威力を発揮する。さらにDNAは保存条件によっては安定しているため、凍結生検材料、骨など過去の検体からも検査を行うことができる。

また、近年増加傾向にある性感染症の検査において、検査機会の拡大を図るべく、遺伝子検査が注目されている。

【0003】

従来核酸の精製濃縮方法としては、フェノール／クロロホルム／エタノールを

用いた精製方法、核酸を吸着するカラムを用いた精製方法、磁性シリカビーズを用いた精製方法等が知られている。

#### 【0004】

さらに、平板状の電気泳動ゲルから核酸を回収する方法として、作成したゲルにおいて核酸を電気泳動し、ゲルにおいて目的とする核酸の位置に回収装置を移動し、更なる電気泳動により目的とする核酸を回収する方法が知られている（例えば、特許文献1参照）。

この他に、平板状の電気泳動ゲルにおいて、核酸を電気泳動して目的とする核酸を分離し、目的とする核酸のバンド近傍に回収チップを挿入して核酸を回収する方法が知られている（例えば、特許文献2参照）。

#### 【0005】

##### 【特許文献1】

実開平5-88296号公報

##### 【特許文献2】

特開平8-327595号公報

#### 【0006】

##### 【発明が解決しようとする課題】

しかし、従来核酸の精製濃縮方法において、フェノール／クロロホルム／エタノールを用いた精製方法は、劇薬を使用するため、高度の化学設備を必要とするものであり、利用する環境が限定される。そして、操作に手間がかかるとともに、高速遠心が必要となり、自動化が困難である。また、高い精製精度を得ることが困難である。

核酸を吸着するカラムを用いた精製方法は、遠心もしくは吸引操作を行う必要があるため、自動化が困難である。

さらに、磁性シリカビーズを用いた精製方法は、磁石によるビーズの回収を失敗した場合や、シリカビーズが磁性体より剥落した場合には、サンプルにシリカが混入する可能性がある。そして、高い回収率を得ることが困難である。

#### 【0007】

さらに、平板状の電気泳動ゲルから核酸を回収する従来の技術においては、平

板状の電気泳動ゲルを必要とするとともに、この平板状の電気泳動ゲルにおいて一端電気泳動を行い、目的核酸の該当位置のゲルを処理する必要がある。

電気泳動に用いられるゲルは、衝撃に弱く、生成過程により、特性が大きく異なる場合がある。このため、一般に電気泳動を行った後に、紫外線により電気泳動ゲルにおける目的核酸の位置を認識した後に、目的核酸の含有量の多い部分を処理するものである。

#### 【0008】

このため、遺伝子検査等にこの手法を利用する場合には、一回の検査にかかる時間が長くなる。また、電気泳動に用いるゲルが大きくゲルのムラによる核酸のバンドににじみにより核酸の回収率が低下する可能性がある。さらに、ゲルが大きい場合には、電気泳動に必要な電力が大きくなる。

#### 【0009】

##### 【課題を解決するための手段】

上記の課題を解決すべく、本発明は次のような手段を用いる。

すなわち、請求項1に記載のごとく、検体導入部と、保持部と、洗浄液貯蔵部と、溶出液貯蔵部と、排出部とを備えた検体前処理デバイスを構成するものである。

このようなデバイスを構成することにより、目的の核酸を含む検体から核酸を遊離させる機能と、遊離した核酸を抽出・精製する機能を一体化させることにより、前処理工程での感度のロスが生じないようにするものである。

このようなデバイス内で、前記検体から核酸を遊離させ、さらに、遊離した核酸を抽出・精製することができる。また、自動化が容易であり、前処理のコストを低減できる。そして遺伝子検査を身近なシステムで行うことが出来るようになる。

#### 【0010】

##### 【発明の実施の形態】

次に、本発明の実施の形態について図を用いて説明する。

図1は前処理デバイスの全体構成を示す斜視図、図2はデバイスの構成を示す斜視図、図3は同じく平面図、図4は図3におけるA-A線断面図、図5は図3

における B-B 線断面図である。

図 1 から図 5 を用いて、前処理デバイス 1 の構成について説明する。

前処理デバイス 1 は導入部 11 に検体を導入し、検体より核酸を遊離させ、保持部 15 において核酸を保持し、洗浄した後に、核酸を取出すものである。

前処理デバイス 1 は、基盤 2 上に検体導入部と、保持部と、洗浄液貯蔵部と、溶出液貯蔵部と、排出部とを備えたものである。

前処理デバイス 1 の基盤 2 上には、検体の導入部 11、菌体・ウィルスから核酸を遊離させるヒータ 12、核酸を保持する保持体 5、洗浄液ユニット 3、溶出液ユニット 4 が配設されている。そして、基盤 2 に設けた溝にバルブ 10、基盤 2 の溝をエアーポンプに接続するコネクタ 6・7 が接続している。

核酸を保持する保持体 5 としては、シリカメンブレンなどを利用することが可能である。

そして、洗浄液ユニット 3 および溶出液ユニット 4 上には、アクチュエータ 8・9 が配設されている。アクチュエータ 8・9 を作動させることにより、このアクチュエータ 8・9 が洗浄液ユニット 3、溶出液ユニット 4 を押して、基盤 2 上に洗浄液、溶出液が流出する。

#### 【0011】

前処理デバイス 1 は導入部 11 より、検体を導入し、保持部 15 へと送るものである。基盤 2 において、図 5 に示すごとく、ヒータ 12 は導入部 11 より保持部 15 に通じる溝をつなぐ、下りの傾斜面に設けられている。これにより、導入部 11 に導入された検体は、重力又は、毛細管現象、ポンプ 6 または 7 の吸引力によりヒータ 12 上を移動する。この際に、ヒータ 12 により検体を加熱し、検体より核酸を遊離させる。

洗浄液貯蔵部 13 および溶出液貯蔵部 14 は、基盤 2 の凹部に構成されており、洗浄液貯蔵部 13 には洗浄液ユニット 3 が配設されており、溶出液貯蔵部 14 には貯蔵液ユニット 4 が配設されている。そして、同様に基盤 2 の凹部に保持部 15、排出部 16、採取部 17 が設けられている。保持部 15 には核酸の吸着保持をおこなう保持体 5 が配設されている。排出部 16 および採取部 17 には溝を介して、エアーポンプに接続するコネクタ 6・7 が接続している。

## 【0012】

次に、前処理デバイスによる前処理の構成について、図6から図8を用いて説明する。

図6は核酸を保持する工程を示す図、図7は核酸を洗浄する工程を示す図、図8は核酸を溶出する構成を示す図である。

まず、導入部11に注入された検体は、ヒータ12上を移動しながら核酸を遊離させる。そして、検体は遊離した核酸とともに、保持部15に導入され、核酸成分が保持体5により保持される。

この際には、バルブ10を開き、排出部16に接続したコネクタ6より空気を吸引することにより、検体を円滑に保持部15に導入することができる。

## 【0013】

この後、図7に示すごとく、洗浄液貯蔵部13より洗浄液が流出し、保持部15の洗浄を行う。アクチュエータ9により、洗浄液ユニット3を押し、洗浄液貯蔵部13より保持部15へ洗浄液の供給を行うものである。そして、保持部15に供給された洗浄液は、保持体5を洗浄し、排出部16へと流れる。

保持体5は核酸を保持しており、不必要なたんぱく質などが排出部に流出することとなる。

この際には、バルブ10を閉じ、排出部16に接続したコネクタ6より空気を吸引することにより、洗浄液を円滑に保持部15に導入することができる。

## 【0014】

次に、図8に示すごとく、溶出液貯蔵部14より溶出液が流出し、保持部15の核酸を溶出させる。アクチュエータ8により、溶出液ユニット4を押し、溶出液貯蔵部14より保持部15へ溶出液の供給を行うものである。そして、保持部15に供給された溶出液は、保持体5に吸着した核酸を溶出させ、採取部17へと流れる。

保持体5は核酸を放出し、保持されていた核酸が採取部に供給されることとなる。

この際には、バルブ10を閉じ、採取部17に接続したコネクタ7より空気を吸引することにより、溶出液を円滑に採取部17へと流入させることができる。



## 【0015】

このように、一つの基盤 2 上に、検体導入部 1 1 と、保持部 1 5 と、洗浄液貯蔵部 1 3 と、溶出液貯蔵部 1 4 と、排出部 1 6 とを備え、各部を溝により接続するので、一つの基盤 2 上においても容易に核酸の採取を行うことができる。

## 【0016】

図 9 は第二実施例である前処理デバイスを示す図である。

次に、図 9 を用いて第 2 実施例について説明する。

第二実施例の前処理デバイス 2 1 は、液を縦方向に循環させて、保持体への核酸の保持および溶出を行うものである。

前処理デバイス 2 1 には、上部から導入部 2 2、保持部 2 9、フィルター 3 2、ゲル槽 3 1、負電極 3 3、正電極 3 4、採取部 3 5、吸着液貯蔵部 2 3、洗浄液貯蔵部 2 6・2 6、溶出液貯蔵部 2 4、ドレイン槽 2 5 が設けられている。そして、前処理デバイス 2 1 の中央には、各貯蔵部を接続する巡回経路 2 7 が配設されており、巡回経路 2 7 にポンプ 2 8 が配設されている。巡回回路 2 7 と各貯蔵部との接続個所にはバルブが配設されており、液の流出および流入を制御可能に構成しているものである。

なお、保持部 2 9 の保持体としては、シリカ膜等を利用できるものである。

## 【0017】

前処理デバイス 2 1 において、検体は導入部 2 2 に導入され、ポンプ 2 8 により、フィルター 3 2 を介して巡回経路 2 7 内に導入される。検体をフィルター 3 2 を介して導入するので、検体に含まれるごみによる影響を排除できる。そして、巡回経路 2 7 に導入された検体は保持部 2 9 に供給される。必要ならば、検体が保持部 2 9 に供給される直前には、吸着液貯蔵部 2 3 から吸着液を流出させ、検体中に含まれる核酸を保持部 2 9 に吸着させるものである。

## 【0018】

そして、核酸が保持部 2 9 に十分に保持された後に、洗浄液貯蔵部 2 6 より洗浄液が流出し、保持部 2 9 に保持された核酸以外の物質を洗い流す洗浄を行うものである。洗浄後の液は、ドレイン槽 2 5 へと排出される。

一定の洗浄が終了した後は、溶出液 2 4 を保持部 2 9 に供給して、保持部 2

9に吸着した核酸を溶出される。そして、溶出した核酸は、負電極33と正電極34に電圧を印加することにより、電気泳動によりゲル槽31内に導入される。そして、ゲル槽31を通過した核酸が、採取部35より採取されるものである。

#### 【0019】

次に、第三実施例について、図10を用いて説明する。

図10は第三実施例の前処理デバイスの平面図、図11は核酸の採取工程を示す図である。

第三実施例の前処理デバイス41において、ディスク42上に、導入部43、サンプル供給経路44、採取部48、保持部45、溶出液供給部47、ドレイン部46が刻設されており、ディスク42は駆動自在に構成されている。

導入部43からドレイン部46に至る経路は、ディスク42の中心からの距離が大きくなるように構成されており、溶出液供給部47から採取部48に至る経路も、ディスク42の中心からの距離が大きくなるように構成されている。

図11(a)に示されるごとく、導入部43に検体を導入した後に、ディスク42を時計回りに回転させると、導入部43の検体が保持部45に供給される。ここで、核酸は保持部45の保持体に吸着し、他の成分はドレイン部46に排出される。その後導入部43に洗浄液を導入した後にディスク42を時計回りに回転させると、保持部45に吸着した核酸を洗浄することができる。

そして、溶出液供給部47に溶出液を供給して、ディスク42を、図11(b)に示すごとく、反時計回りに回転させると、溶出液が溶出液供給部47より保持部45を介して採取部48に供給される。これにより、保持部45において保持されていた核酸が、採取部48に供給されるものである。

#### 【0020】

次に、図12を用いて、第四実施例について説明する。

図12は第四実施例の前処理デバイスの構成を示す図である。図12(a)は前処理デバイスの側面図、図12(b)は同じく平面図、図12(c)は同じく斜視図である。

第四実施例において、前処理デバイス51は、第一槽53、第二槽54、保持部52により構成されている。第一槽53および第二槽54は、底面が傾斜した

構成となっており、保持部 52 に向かって上昇する構成となっている。

このため、第一槽 53 もしくは第二槽 54 に検体を供給し、電気泳動を行うことにより、検体中の核酸を保持部 52 において保持することができる。保持部 52 は第一槽 53 および第二槽 54 の容積に比べ、非常に小さく構成されているので、保持部 52 において、容易に核酸の濃縮を行うことができる。

#### 【0021】

#### 【発明の効果】

すなわち、請求項 1 に記載のごとく、検体導入部と、保持部と、洗浄液貯蔵部と、溶出液貯蔵部と、排出部とを備えた検体前処理デバイスを構成するので、

菌体・ウイルスから核酸を遊離させる機能と、遊離した核酸を抽出・精製する機能を一体化させることにより、前処理工程での感度のロスが生じないようにするものである。

そして、このようなデバイス内で、菌体・ウイルスから核酸を遊離させ、さらに、遊離した核酸を抽出・精製することができるので、自動化が容易であり、前処理のコストを低減できる。そして遺伝子検査を身近なシステムで行うことが出来るようになる。

#### 【図面の簡単な説明】

##### 【図 1】

前処理デバイスの全体構成を示す斜視図。

##### 【図 2】

デバイスの構成を示す斜視図。

##### 【図 3】

同じく平面図。

##### 【図 4】

図 3 における A-A 線断面図。

##### 【図 5】

図 3 における B-B 線断面図。

##### 【図 6】

核酸を保持する工程を示す図。

## 【図 7】

核酸を洗浄する工程を示す図。

## 【図 8】

核酸を溶出する構成を示す図。

## 【図 9】

第二実施例である前処理デバイスを示す図。

## 【図 10】

第三実施例の前処理デバイスの平面図。

## 【図 11】

核酸の採取工程を示す図。

## 【図 12】

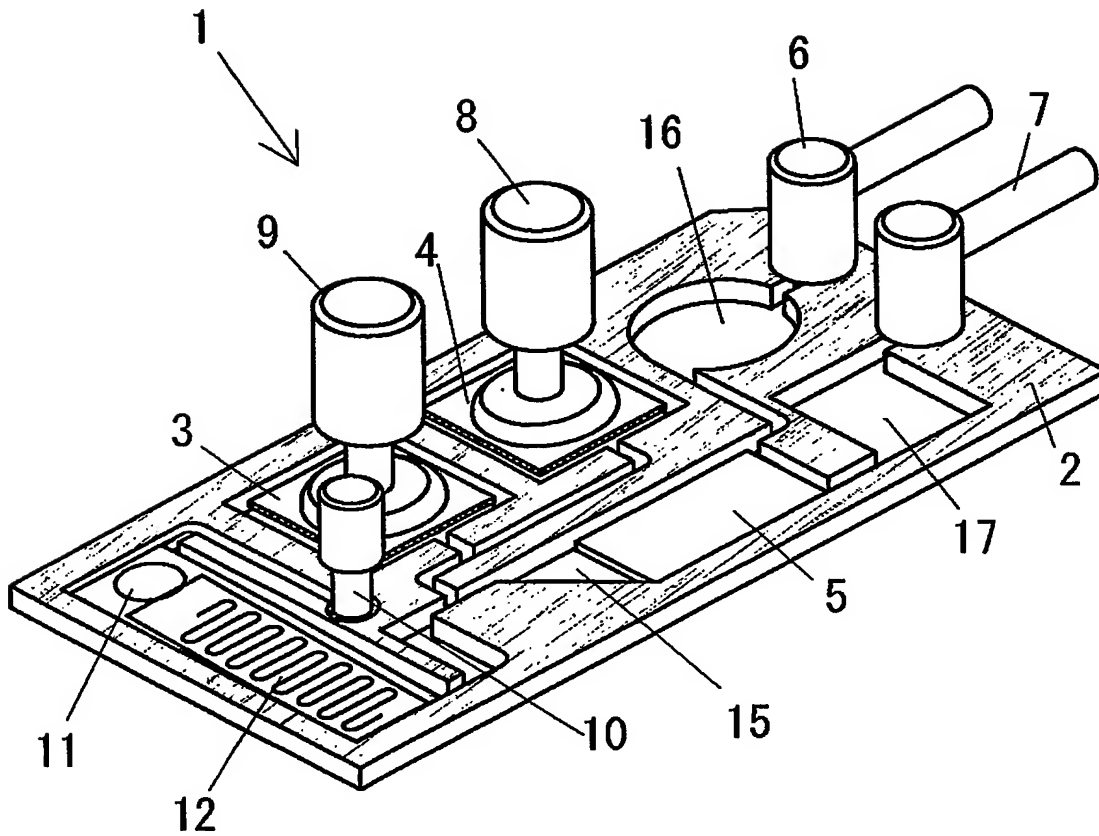
第四実施例の前処理デバイスの構成を示す図。

## 【符号の説明】

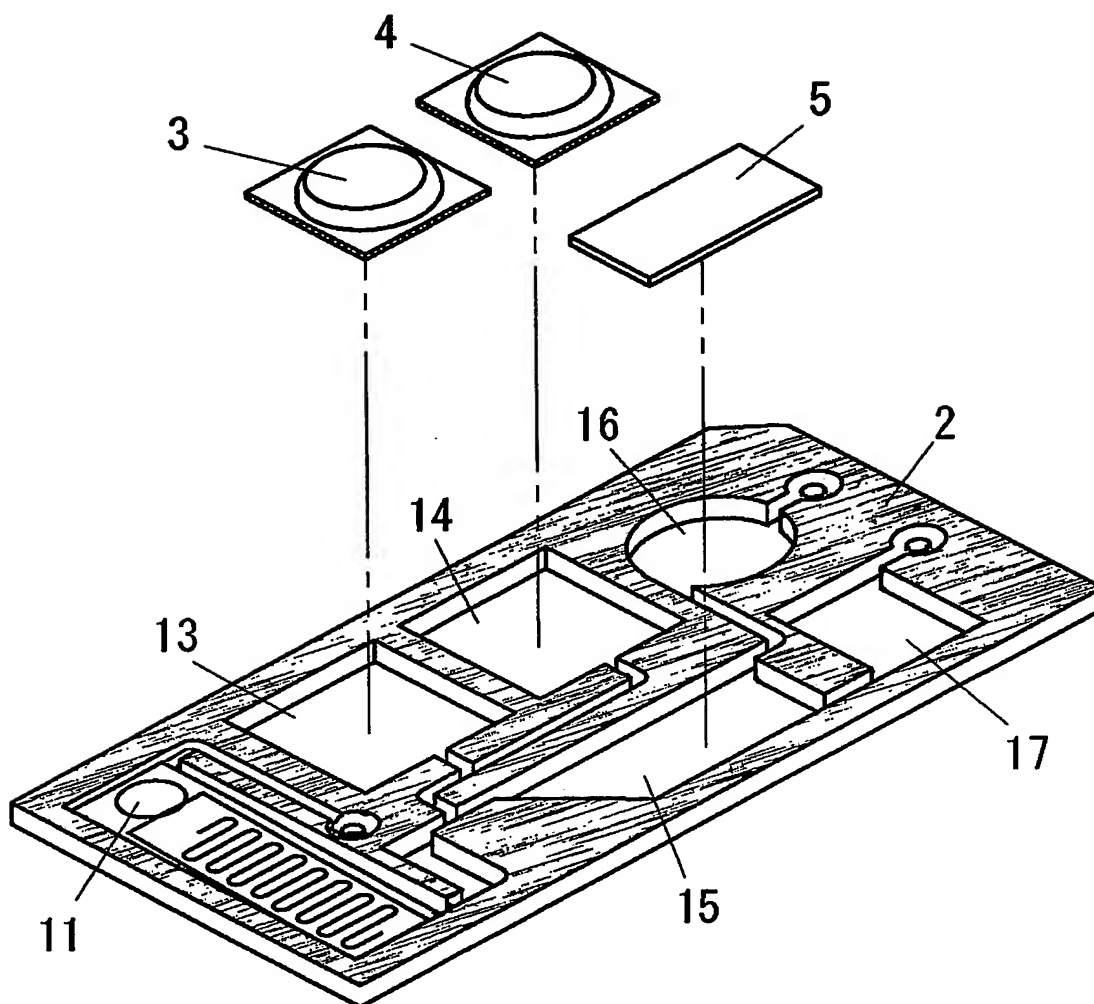
- 1 前処理デバイス
- 2 基盤
- 3 洗浄液ユニット
- 4 溶出液ユニット
- 5 保持体
- 6・7 コネクタ
- 8・9 アクチュエータ
- 10 バルブ
- 11 導入部
- 12 ヒータ
- 13 洗浄液貯蔵部
- 14 溶出液貯蔵部
- 15 保持部
- 16 排出部
- 17 採取部

【書類名】 図面

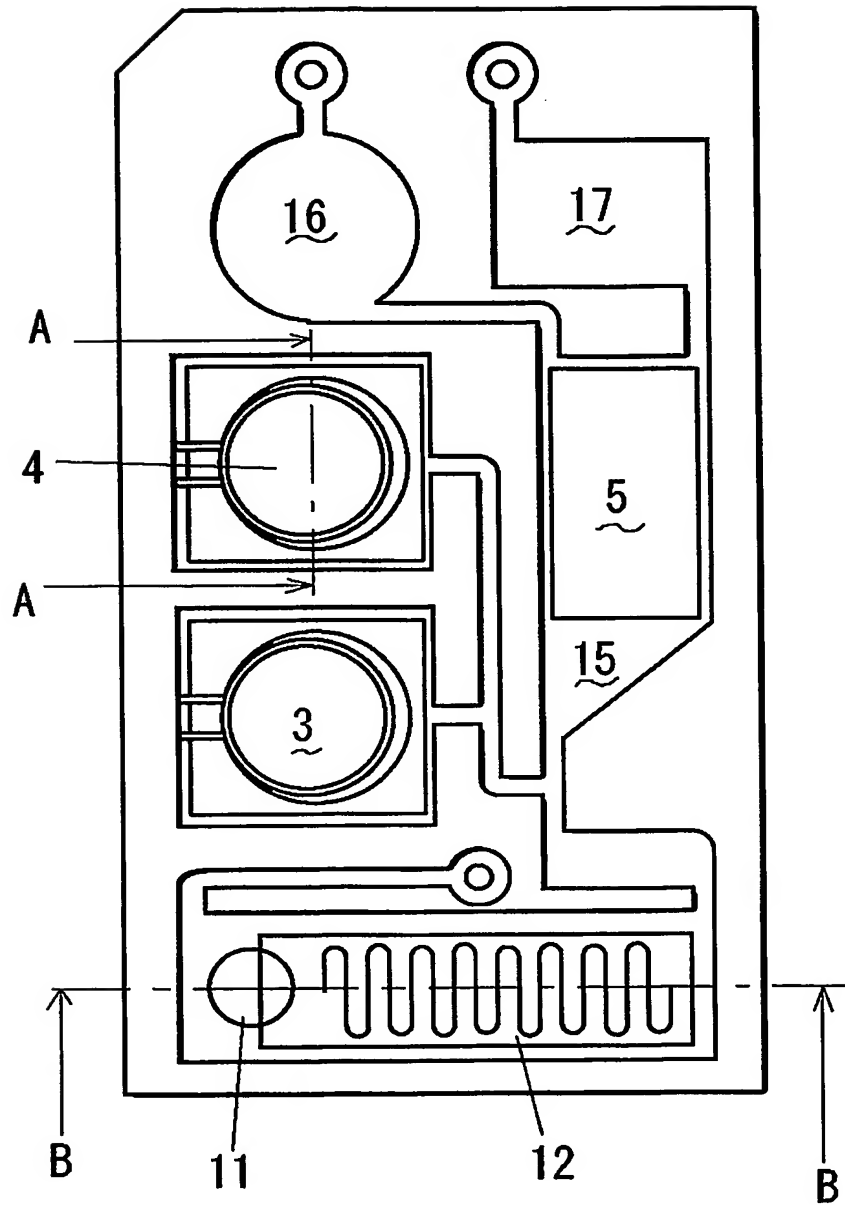
【図 1】



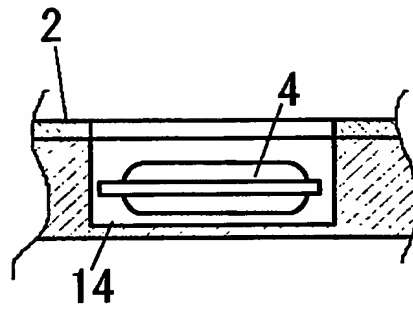
【図 2】



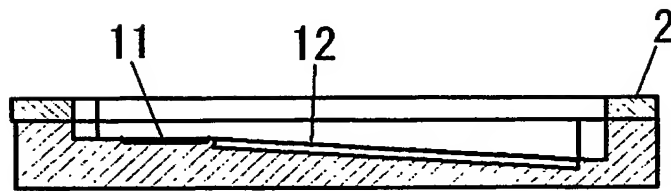
【図 3】



【図 4】

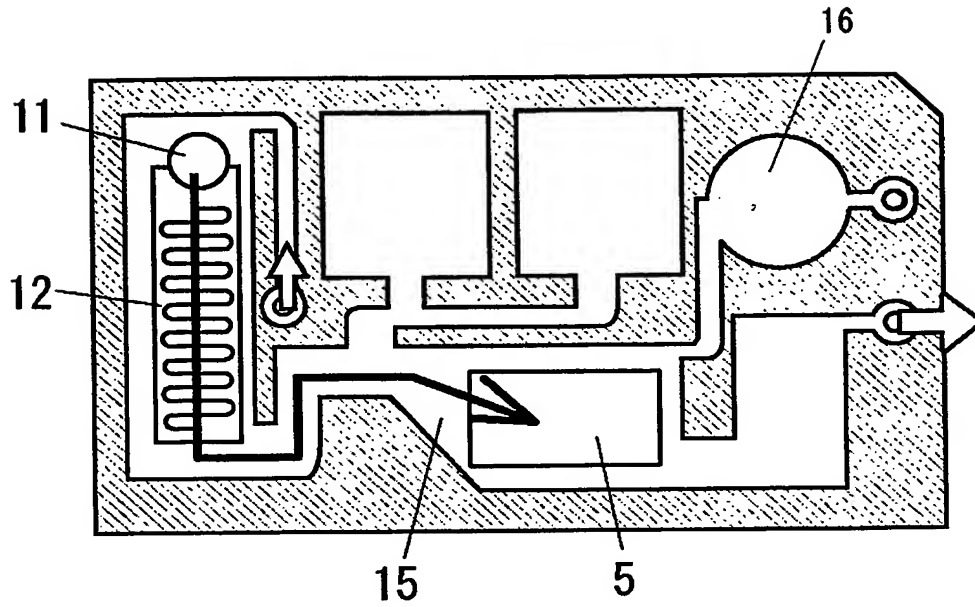


【図 5】

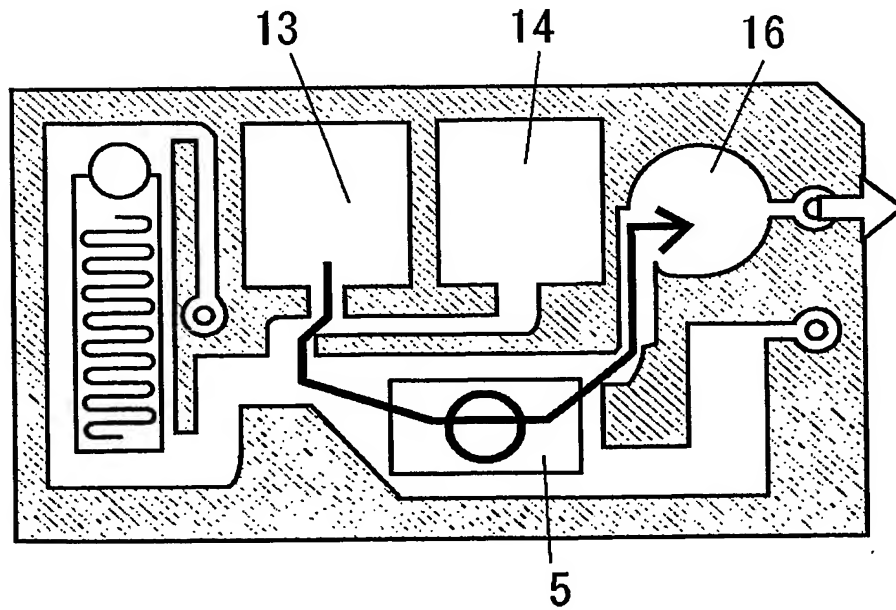




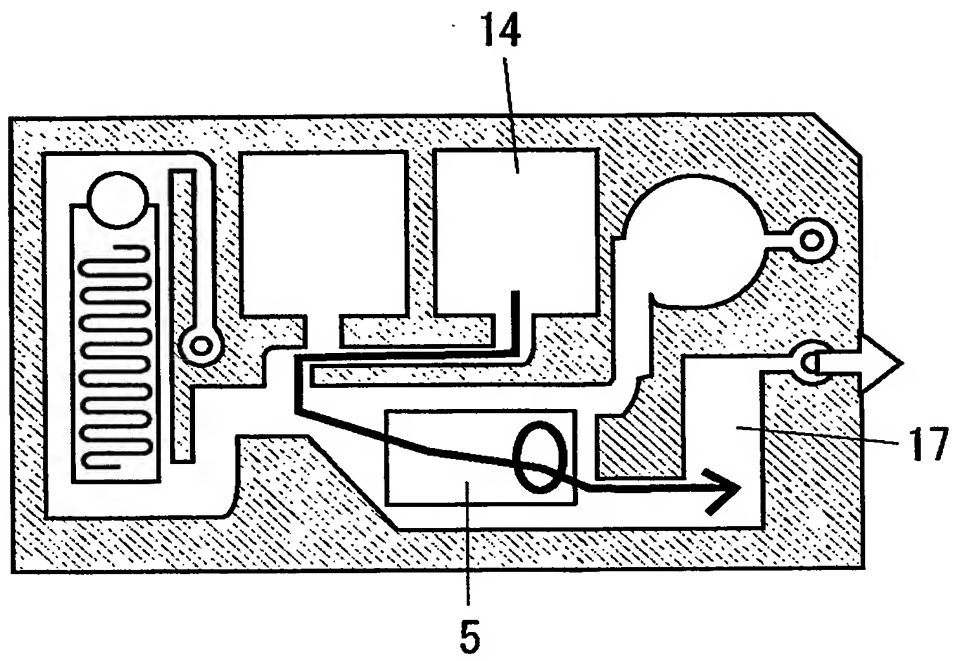
【図 6】



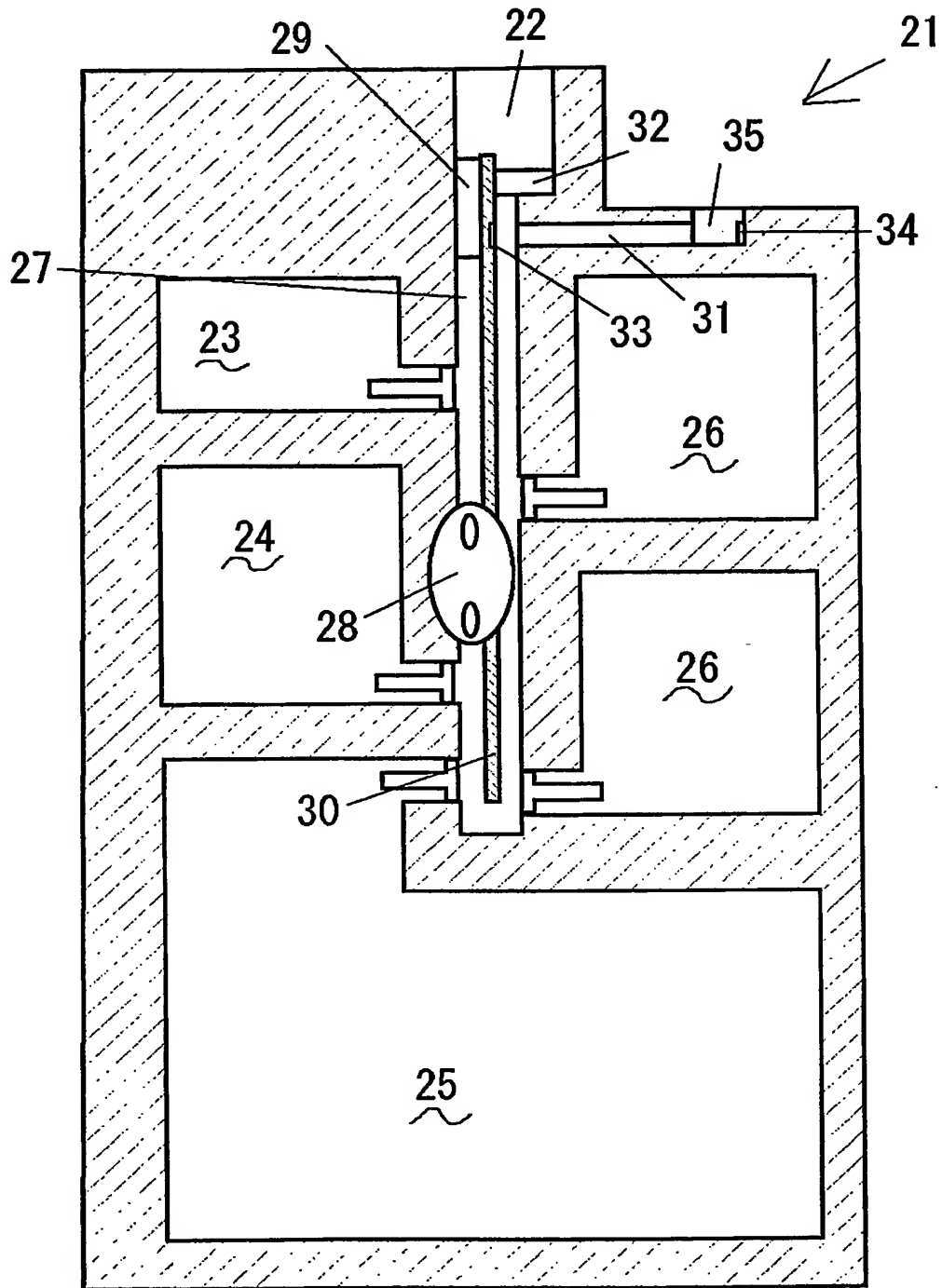
【図 7】



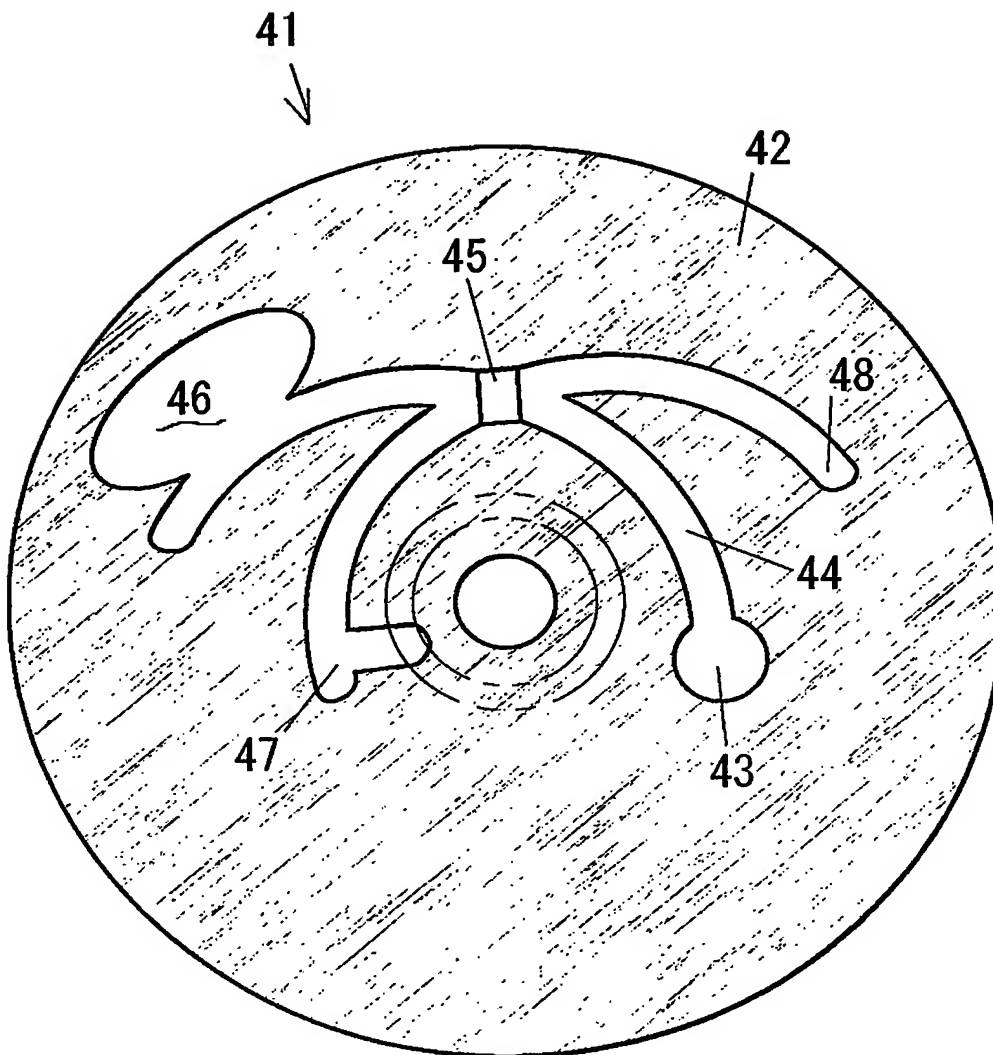
【図 8】



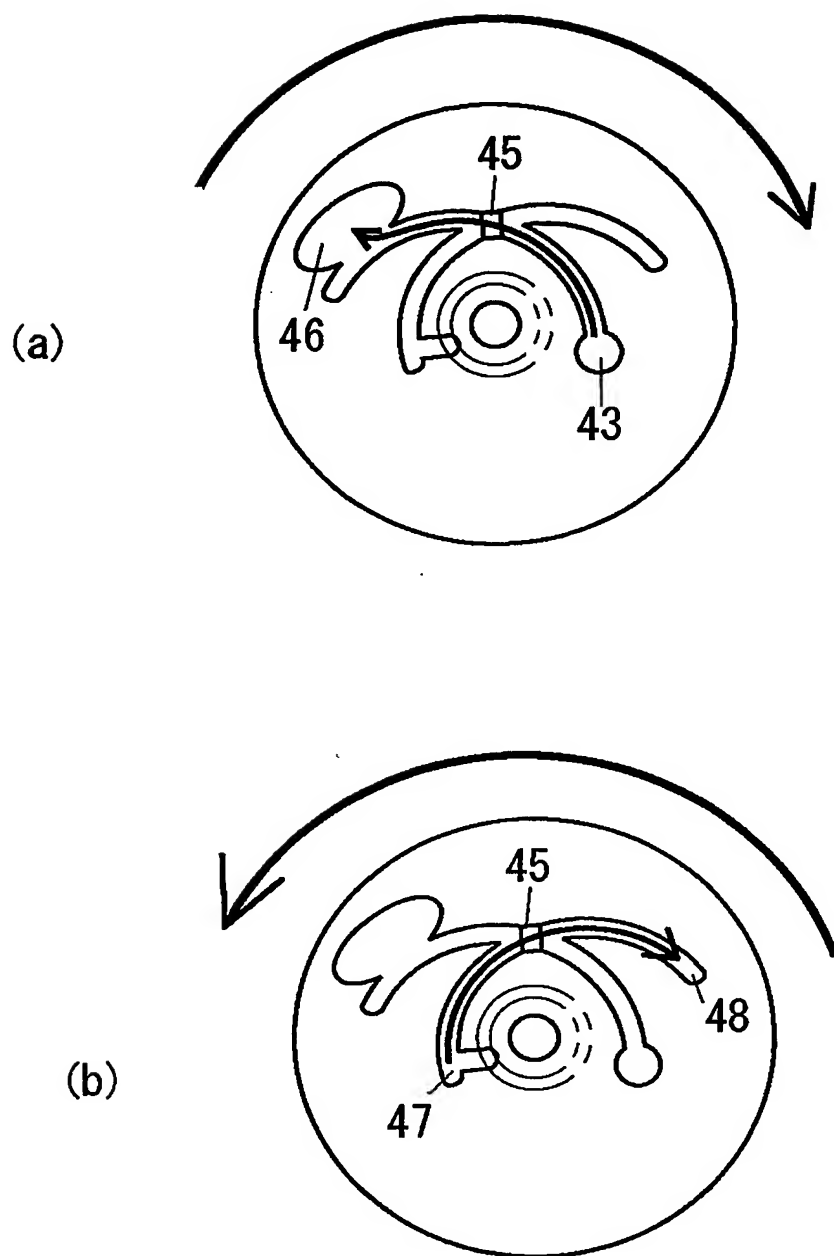
【図 9】



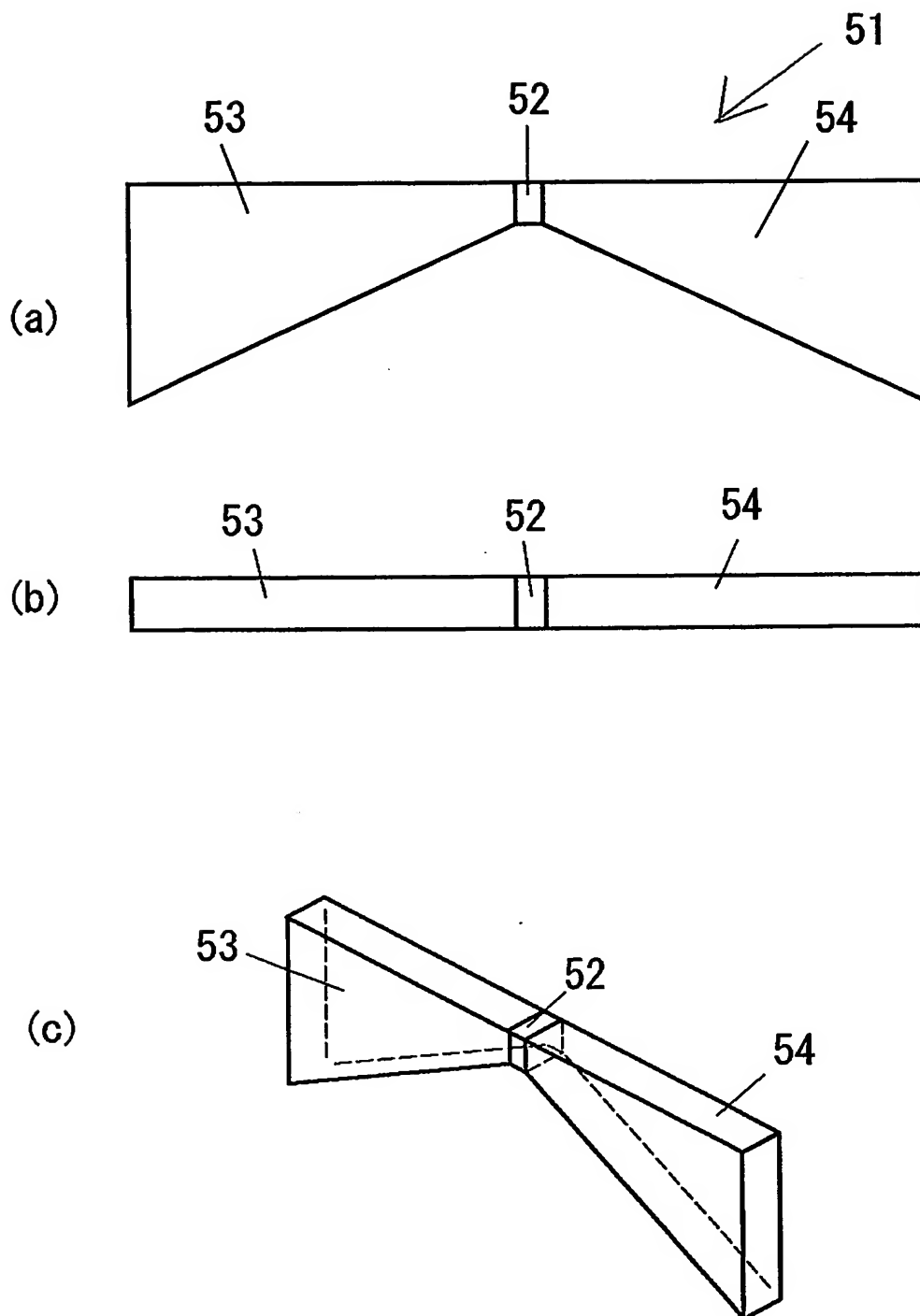
【図 10】



【図 11】



【図 12】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 近年、ヒトゲノムの解読が進み、さまざまな生命現象と遺伝子の関連が解明されてきている。そして、この成果により、医学・医療は病態から病因へ、治療から予防へと視野を広げている。ここにおいて、遺伝子検査技術は重要な基盤となっている。そこで、核酸検査の前処理工程での感度のロスが生じないようにし、容易に自動化し、前処理のコストを低減し、遺伝子検査を身近なシステムとすることを課題とする。

【解決手段】 検体導入部と、保持部と、洗浄液貯蔵部と、溶出液貯蔵部と、排出部とを備えた検体前処理デバイスを構成する。

【選択図】 図 1

特願 2002-345211

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[000141897]

1. 変更年月日

2000年 6月12日

[変更理由]

名称変更

住 所

京都府京都市南区東九条西明田町57番地

氏 名

アークレイ株式会社



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**